

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
20. Dezember 2001 (20.12.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/95855 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/06831

(22) Internationales Anmeldedatum:
15. Juni 2001 (15.06.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
100 28 971.1 16. Juni 2000 (16.06.2000) DE

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **TSCHESCHE, Harald** [DE/DE]; Univer-
sitätsstr. 25, 33615 Bielefeld (DE). **FARR, Martin**
[DE/DE]; Universitätsstr. 25, 33615 Bielefeld (DE).

(74) Anwälte: **BOETERS, Hans** usw.; Boeters & Bauer, Bere-
iteranger 15, 81541 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,

CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK,
SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA,
ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: PREGNANCY-ASSOCIATED PLASMA PROTEIN-E (PAPP-E)

(54) Bezeichnung: PREGNANCY-ASSOCIATED PLASMA-PROTEIN-E (PAPP-E)

(57) Abstract: The invention relates to pregnancy-associated plasma protein-E (PAPP-E).

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft das Pregnancy-associated Plasma-Protein-E (PAAP-E).

WO 01/95855 A2

5

Pregnancy-associated Plasma-Protein-E (PAPP-E)

10

Die Erfindung betrifft das Pregnancy-associated Plasma-Pro-
15 tein-E (PAPP-E).

20

Eine Aufstellung der in der folgenden Schilderung des Standes
der Technik in Bezug genommenen Literaturstellen mit genau-
eren bibliographischen Angaben findet sich am Ende dieser
Beschreibung.

25

30

Mit immunologischen Methoden wurden im humanen maternalen Se-
rum der letzten Schwangerschaftswochen vier Plasmaproteine
nachgewiesen und *Pregnancy-associated Plasma Proteins* (PAPP-
A, -B, -C und -D) genannt [Gall 1972, Lin 1974]. Während es
sich bei PAPP-C und -D um das schwangerschaftsspezifische β_1 -
Glykoprotein beziehungsweise das plazentale Laktogen handelte
[Lin 1974, Bohn 1971], waren PAPP-A und -B neue Proteine. Im
Gegensatz zu PAPP-B, das als ein 1300 kDa großes Oktamer aus
vermutlich identischen, 74 kDa schweren Untereinheiten be-
schrieben wurde [Bossi 1993], ist PAPP-A ein Monomer und
bildet einen etwa 800 kDa schweren disulfidverbrückten 2:2-
Komplex mit der stark glykosylierten Proform des *Eosinophil*

Major Basic Proteins (proMBP) [Oxvig 1993]. Dieser Komplex ist 4-6 Wochen nach der Konzeption im maternalen Serum nachweisbar und erreicht gegen Ende der Schwangerschaft Konzentrationen von etwa 50 mg/l [Folkersen 1981, Westergaard 1983]. Die Hauptquelle des PAPP-A/proMBP-Komplexes, der im Fetus nicht vorkommt, scheint das trophoblastische Gewebe der Plazenta zu sein [Bonno 1994]. Nach der Geburt verschwindet der Komplex aus der Zirkulation mit einer Halbwertszeit von drei bis vier Tagen [Lin 1976]. Der PAPP-A/proMBP-Komplex ist auch bei nicht schwangeren Frauen nachweisbar, und zwar in niedrigen Konzentrationen in den Granulosazellen, der Follikelflüssigkeit der Ovarien, in der Oviduktmucosa, der Zervixmucosa und dem Endometrium [Sinovich 1984, Sjöberg 1984 und 1986]. Ebenso sind niedrige Konzentrationen beim Mann gemessen worden, nämlich in Testis und Seminalplasma [Klopper 1985].

In den letzten Jahren wurde durch zahlreiche Studien dokumentiert, daß PAPP-A als diagnostischer Marker für fetale Trisomie 21 (Down-Syndrom) im maternalen Serum des ersten Trimesters der Schwangerschaft genutzt werden kann. Im Vergleich zu normal verlaufenden Schwangerschaften ist die PAPP-A/proMBP-Konzentration, gemessen zwischen der sechsten und vierzehnten Schwangerschaftswoche, um 50 bis 77 Prozent reduziert [Pandya 1995]. Je nach Kombination mit weiteren Markern, insbesondere der freien β -Untereinheit des humanen Choriongonadotropin (β hCG), der Ultraschallmessung der fetalen Nackentransparenz und dem Alter der Schwangeren, können 76 bis 87% der Schwangerschaften mit Trisomie 21 im ersten Trimester nicht-invasiv erkannt werden [u.a. De Graaf 1999]. Entsprechendes gilt für die Trisomien 13, 18 und 22 [Bersinger 1994, Wheeler 1996, Biagotti 1998].

1993 und 1994 erfolgten die Lokalisierung des PAPP-A Genes auf Chromosom 9 und die Klonierung der vollständigen cDNA-Sequenz [Silahtaroglu 1993, Kristensen 1994]. Das 1547 Aminosäuren große PAPP-A entsteht aus einem größeren Propeptid und umfaßt 82 Cysteinreste, die alle verbrückt sind, sowie 14 potentielle N-Glykosylierungsstellen und 7 mögliche Stellen für Glykosaminoglykan-Gruppen [Kristensen 1994]. Obwohl PAPP-A insgesamt keine Homologie zu anderen Proteinen besitzt, existieren C-terminal fünf jeweils ungefähr 60 Reste umfassende Motive, die ähnlich in Komplement regulierenden Proteinen und Selektinen vorkommen [Kristensen 1987 und 1994, Reid 1989]. Darüber hinaus beinhaltet die PAPP-A Sequenz drei etwa 30 Reste lange Motive, die mit den *Lin-notch* Motiven in homeotischen Proteinen der frühen Gewebsdifferenzierung bei *C. elegans*, *D. Melanogaster* und *X. laevis* verwandt sind [Kristensen 1994].

Zudem verfügt PAPP-A über ein potentielles Zinkbindungsmotiv mit potentielltem Met-Turn, wie es in den Astacinen, Ser-
ralysinen, Adamalysinen einschließlich einiger ADAMs und Matrixmetalloproteinasen vorkommt [Stöcker 1995, Bode 1996]. Vor kurzem wurde gezeigt, daß proteolytische Aktivität gegenüber dem *Insulin-like Growth Factor Binding Protein-4* (IGFBP-4) besteht [Lawrence 1999]. Hierdurch würde regulatorisch in die sogenannte "IGF-Achse" eingegriffen werden. Sie umfaßt die beiden *Insulin-like Growth Factors* (IGF-I und -II), die *Insulin-like Growth Factor Binding Proteins* (IGFBP-1 bis -6), IGFBP-spaltende Proteinasen und die IGF-Rezeptoren (vorallem IGF-IR) [Bayes-Genis 1999].

30

Um für ihre biologische Signalwirkung zur Verfügung zu stehen, müssen die IGFs aus den Komplexen mit ihren Bindungspro-

teinen freigesetzt werden. Dieses kann durch die Serinproteinasen Plasmin und Thrombin [Angelloz-Nicoud 1996, Zheng 1998], die Matrixmetalloproteinasen MMP-1, -2 und -3 (Kollagenase 1, Gelatinase A und Stromelysin 1) [Fowlkes 1994],
5 sowie durch PAPP-A geschehen [Lawrence 1999], indem diese die Bindungsproteine spalten. Anschließend können die freien IGFs an ihre Rezeptoren binden, insbesondere den IGF-IR, der als Rezeptor-Tyrosinkinase verschiedene intrazelluläre Signalwege initiiert. Diese führen schließlich zu den pleiotropen Effekten der IGF-Achse wie Proliferation, Differenzierung und dem
10 Schutz vor Apoptose [Butt 1999], aber auch zu pathobiochemischen Prozessen beispielsweise bei Herzerkrankungen oder Krebs [Ren 1999, Yu 1999].

15 Die Erfindung betrifft nun eine cDNA-Sequenz, die das humane Pregnancy-associated Plasma-Protein-E (PAPP-E) kodiert.

Die erfindungsgemäße DNA-Sequenz umfaßt eine DNA-Sequenz, die ausgewählt ist unter

20

(a) der folgenden DNA-Sequenz:

tccgagggcgccccgggcaggtgttctgccaactctgagctgggctggacacgcaagaaatcc
ttggttgagaggggaacacctgaatcaggtgctggttgaaggagaacgttggttggtgggggc
25 caaggttcgaagaccagagcttctccacagcatcacctctttggagtctaccccagcaggg
ctgggaactacctaaggccctaccccgtgggggagcaagaaatccatcatacaggacgcagc
aaaccagacactgaaggaaatgctgtgagccttggttccccagacctgactgaaaatccagc
aggactgaggggtgcagttgaagagccggctgccccatgggtaggggatagtcctattgggc
aatctgagctgctgggagatgatgacgcttatctcggcaatcaaagatccaaggagtctcta
30 ggtgaggccgggattcagaaaggctcagccatggctgccactactaccaccgccattttcac
aacctgaacgaacccaaaccagagacccaaaggaggggctgggccaagtccaggcagcgtc
gccaagtgtggaagaggcgggcggaagatgggcaggggagactccggtatctcttcacatttc

caaccttggcccaagcattcccttaaacaacaggggtcaaaaagagtccaccggaggaaagcaa
ccaaaatggtggagaggggtcctaccgagaagcagagacctttaactcccaagtaggactgc
ccatettatacttctctgggagggcgggagcggctgctgctgcgtccagaagtgctggctgag
attccccgggagggcgttcacagtggaagcctgggttaaaccggaggaggacagaacaaccc
5 agccatcatcgcaggtgtgtttgataactgctcccacactgtcagtgacaaaggctgggccc
tggggatccgctcaggggaaggacaagggaagcgggatgctcgcttcttcttctccctctgc
accgaccgcgtgaagaaagccaccatcttgattagccacagtcgctaccaaccaggcacatg
gacccatgtggcagccacttacgatggacggcacatggccctgtatgtggatggcactcagg
tggctagcagtcctagaccagtctggtcccctgaacagccccttcatggcatcttgccgctct
10 ttgctcctgggggggagacagctctgaggatgggcactatttccgtggacacctgggcacact
ggttttctgggtcgaccgccctgccacaaagccattttcagcacagttctcagcattcaagtg
aggaggaggaagcgcactgacttggctcctgacagcgcagctttgagcctgtgaacacagagtgg
gttcccttttagagatgagaagtacccacgacttgagggttctccagggtttgagccagagcc
tgagattctgtcgcctttgcagccccactctgtgggcaaacagtcctgtgacaatgtggaat
15 tgatctcccagttacaatggatactggccccttcggggagagaagggtgatacgctaccagggtg
gtgaacatctgtgatgatgagggcctaaaccccattgtgagtgaggagcagattcgtctgca
gcacgaggcactgaatgaggccttcagccgctacaacatcagctggcagctgagcgtccacc
agggtccacaattccaccctgcgacaccgggttggtgcttggtgaactgtgagcccagcaagatt
ggcaatgaccattgtgacccccgagtggtgagcaccactcacaggctatgatgggggtgactg
20 ccgcctgcagggccgctgctactcctggaaccgcagggatgggctctgtcacgtggagtgt
acaacatgctgaacgactttgacgacggagactgctgcgacccccagggtggctgatgtgcgc
aagacctgctttgaccctgactcacccaagagggcatacatgagtgtgaaggagctgaagga
ggccctgcagctgaacagtactcacttcctcaacatctactttgccagctcagtgcggggaag
accttgacaggtgctgccacctggccttgggacaaggacgctgtcactcacctgggtggcatt
25 gtcctcagcccagcatattatgggatgcctggccacaccgacacccatgatccatgaagtggg
acatgttctgggactctaccatgtcttttaaaggagtcagtgaaagagaatcctgcaatgacc
cctgcaaggagacagtgccatccatggaaacgggagacctctgtgccgacaccgccccact
cccaagagtgcgctgtgccgggaaccagagcccactagtgacacctgtggcttcactcgctt
cccaggggctccgttcaccaactacatgagctacacggatgataactgcactgacaacttca
30 ctccctaaccaagtggcccgaatgcattgctatttggacctagtctatcagcagtggaactgaa
agcagaaagccccccccccccattccacctatgggtcatcggacagaccaacaagtccct
cactatccactggctgcctcctattagtgaggttgatatatgacagggcctcaggcagcttgt

gtggcgcttgactgaagatgggacctttcgtcagtatgtgcacacagcttctcccggcgg
gtgtgtgactcctcaggttattggaccccagaggaggctgtggggcctcctgatgtggatca
gccctgcgagccaagcttacaggcctggagccctgaggtccacctgtaccacatgaacatga
cggccccctgccccacagaaggctgtagcttggagctgctcttccaacacccgggtccaagcc
5 gacaccctcaccctgtgggtcacttccttcttcatggagtcctcgcaggtcctctttgacac
agagatcttgctggaaaacaaggagtcagtgcacctggggccccttagacactttctgtgaca
tcccactcaccatcaaactgcacgtggatgggaagggtgtcgggggtgaaagtctacaccttt
gatgagaggatagagattgatgcagcactcctgacttctcagccccacagtcctttgtgctc
tggtgcaggcctgtgaggtaccaggttctccgcatccccatttgccagtggtttgcccg
10 tgggtggtgacacattctcacaggaagttcacggacgtggaggtcacacctggacagatgtat
cagtaccaagttctagctgaagctggaggagaactgggagaagcttcgcctcctctgaacca
cattcatggagctccttattgtggagatgggaagggtgtcagagagactgggagaagagtgtg
atgatggagaccttgtagcggagatggctgctccaagggtgtgtgagctggaggaaggtttc
aactgtgtaggagagccaagcctttgctacatgtatgagggagatggcatatgtgaaccttt
15 tgagagaaaaaccagcattgtagactgtggcatctacactcccaaaggatacttggatcaat
gggctacccgggcttactcctctcatgaagacaagaagaagtgtcctgtttccttggttaact
ggagaacctcattccctaatttgcacatcataccatccagatttaccacaaccacgctcccct
aactggctgggtttcctgtgttgccagtgaaaatgaaactcaggatgacaggagtgaacagc
cagaaggtagcctgaagaaaggatgaggtttggctcaaagtgtgtttcaatagaccagga
20 gaggccagagcaatttttttttttgacaactgatggcctagttcccggagagcatcagca
gccgacagtgactctctacctgaccgatgtccgtggaagcaaccactctcttggaacctatg
gactgtcatgccagcataatccactgattatcaatgtgacctatcaccagaatgtccttttc
caccataccacctcagtgctgccgaatttctcatccccacgggtcggcatctcagctgtggc
tctaaggacatcctcccgcattgggtctttcggctcccagtaactgcatctcagaggacgagg
25 ggcagaatcatcagggaacagagctgtatccatcggccctgtgggaagcaggacagctgtccg
tcattgctgcttgatcatgctgatgtggtgaactgtacctctataggcccaggtctcatgaa
gtgtgctatcacttgtcaaaggggatttgcccttcaggccagcagtgggcagtacatcaggc
ccatgcagaaggaaattctgctcacatgttcttctgggcactgggaccagaatgtgagctgc
cttcccgtggactgcggtgttcccgaaccgtctttgggtgaactatgcaaacttctcctgctc
30 agagggaaccaaatttctgaaacgctgctcaatctcttggtgtcccaccagccaagctgcaag
gactgagcccatggctgacatgtcttgaagatggctctctgggtctctccctgaagtctactgc
aagttggagtgatgctccccctattattctgaatgccaacttgctcctgcctcactgcct

ccaggacaaccacgacgtggggcaccatctgcaaataatgaatgcaaaccagggtactatgtgg
cagaaagtgcagaggggtaaagtcaggaacaagctcctgaagatacaatgcctggaagggtgga
atctgggagcaaggcagctgcattcctgtggtgtgtgagccacccccctcctgtgtttgaagg
catgtatgaatgtaccaatggcttcagcctggacagccagtgtgtgctcaactgtaaccagg
5 aacgtgaaaagcttcccattcctctgcactaaagagggcctgtggacccaggagtttaagttg
tgtgagaatctgcaaggagaatgcccaccacccccctcagagctgaattctgtggagtacaa
atgtgaacaaggatatgggattggtgcagtgtgttccccattgtgtgtaatcccccccagtg
accccgatgctacctgagaatatcactgctgacactctggagcactggatggaacctgtc
aaagtccagagcattgtgtgcactggccggcgctcaatggcacccagaccccgctcttagtcca
10 ctgcatccagtcattgtgagcccttccaagcaaatgggttggtgtgacactatcaacaaccgag
cctactgccactatgacgggggagactgctgctcttccacactctcctccaagaagggtcatt
ccatttgctgctgactgtgacctggatgagtgcacctgccgggaccccaaggcagaagaaaa
tcagtaactgtgggaacaagcccctccctccactgcctcagaggcagtaagaaagagaggcc
gacccaggaggaaacaaaggggtgaatgaagaagaacaatcatgaaatggaagaaggaggaag
15 agcatgaaggatcttataagaaatgcaagaggatattgatagggtgtgaactagttcatcaag
tagcccaagtaggagagaatcataggcaaaaagtttcttttaaagtggcagttgattaacatgg
aaggggaaatatgatagatatataaggaccctccacctgcccggggcgccgctc

oder derem komplementären Strang,

20

(b) DNA-Sequenzen, die unter stringenten Bedingungen an Proteine kodierende Bereiche einer DNA-Sequenz nach (a) oder an Fragmente einer derartigen DNA-Sequenz hybridisieren,

25

(c) DNA-Sequenzen, die aufgrund einer Degeneration des genetischen Codes an DNA-Sequenzen nach (a) oder (b) hybridisieren,

30

(d) allelen Variationen und Mutationen, die sich durch Substitution, Insertion oder Deletion von einzelnen oder mehreren Nucleotiden oder Inversion von einzelnen oder mehreren Nucleotidteilsequenzen der DNA-Sequenzen nach (a) bis (c) er-

geben, wobei die Variationen und Mutanten isofunktionelle Expressionsprodukte kodieren.

Die Erfindung betrifft ferner eine Aminosäuresequenz, die eine Aminosäuresequenz umfaßt, welche ausgewählt ist unter

(a) der folgenden Aminosäuresequenz:

	-82	MAATTTTAIFTTLNEPKPETQR	-61
10	-60	RGWAKSRQRRQVWKRRRAEDGQGDSSGHFQWPWKHSLKHRVKKSPPEESNONGGEGSYR	-1
	1	EAETFNSQVGLPILYFSGRRERLLLRPEVLAEIPREAFTEAWVKPEGQNNPAIIAGVF	60
	61	DNCSHTVSDKGWALGIRSGKDKGRDARFFSLCTDRVKKATILISHSRYQPGTWTHVAA	120
	121	TYDGRHMALYVDGTQVASSLDQSGPLNSPFMASCRSLLLGGDSSDGHYFRGHLGTLVFW	180
	181	STALPQSHFQHSQHSSEEEATDLVLTASFEPVNTIEWVPFRDEKYPRLEVVLQGFEPPEPE	240
15	241	ILSPLOPPLCGQTVCDNVELISQYNGYWPLRGEKVIRYQVNNICDDEGLNPIVSEEQIRL	300
	301	QHEALNEAFSRYNISWQLSVHQVHNSTLRHRVVLVNCEPSKIGNDHCDPECEHPLTGYDG	360
	361	GDCRLQGRCYSWNRRDGLCHVECNMLNDFDDGDCCDPQVADVRKTCFDPDSPKRAYMSV	420
	421	KELKEALQLNSTHFLNIYFASSVREDLAGAATWPWDKDAVTHLGGIVLSPAYYGMPGHTD	480
	481	TMIHEVGHVGLGLYHVFVKGVSERESCNDPCKETVPSMETGDLCADTAPTCKSELCREPEPT	540
20	541	SDTCGFTFRPGAPFTNYMSYTDNCTDNFTPNQVARMHCYLDLVYQQWTESRKPTPTPIP	600
	601	PMVIGQTNKSLTIHWLPPISGVVYDRASGLCGACTEDGTFRQYVHTASSRRVCDSSGYW	660
	661	TPEEAVGPPDVDQPCPSLQAWSPEVHLYHMNMTVPCPTEGCSLELLFQHPVQADTLTLW	720
	721	VTSFFMESSQVLFDTTEILLENKESVHLGPLDTFCDIPLTIKLHVDGKVSQVGVYTFDERI	780
	781	EIDAALLTSQPHSPLCSGCRPVRYQVLRDPPFASGLPVVVTSHSRKFTDVEVTPGQMYQY	840
25	841	QVLAEAGGELGEASPPNLNHIHGAPYCGDGKVSERLGEEDDGDVSGDGCCKVCELEEGF	900
	901	NCVGEPSLCYMYEGDGICEPFERKTSIVDCGIYTPKGYLDQWATRAYSSHEDKKKCPVSL	960
	961	VTGEPHSLICTSYHPDLPNHRPLTGWFPCVASENETQDDRSEQPEGSLKKEDEVWLKVCF	1020
	1021	NRPGEARAIFFLTDDGLVPGEHQOPTVTLYLTDVIRGSNHSGLTYGLSCQHNPLIINVTH	1080
	1081	HQNVLFHHTTSVLPNPFSSPRVGISAVALRTSSRIGLSAPSNCISEDEGQNHQGSQCIHRP	1140
30	1141	CGKQDSCPSLLLDHADVVNCTSIGPGLMKCAITCQRFALQASSGQYIRPMQKEILLTCS	1200
	1201	SGHWDQNVSCLPVDCGVPDPSLVNYANFSCSEGTCKFLKRCSSICVPPAKLOGLSPWLTCL	1260
	1261	EDGLWSLPEVYCKLECDAPPIILNANLLLPHCLQDNHDVGTICKYECKPGYYVAESAEGK	1320
	1321	VRNKLKIQCLEGGIWEQGSQIPVCEPPPPVFEGMYECTNGFSLDSQCVLNCNQEREKL	1380
	1381	PILCTKEGLWTQEFKLCENLQGECPPPPSELNSVEYKCEQGYGIGAVCSPLCVIPSPDPV	1440
35	1441	MLPENITADTLEHWMEPVKVQSIIVCTGRRQWHPDVLVHICIQSCPEFQANGWCDTINNRA	1500
	1501	YCHYDGGDCCSSTLSSKKVIPFAADCCLDECTCRDPKAEENQ	

(b) einer Aminosäuresequenz, bei der es sich um eine allele isofunktionelle Variante der in (a) definierten Aminosäuresequenz handelt,

(c) einer Mutante der in (a) oder (b) definierten Aminosäuresequenz, bei der ein oder mehrere Aminosäurerest(e) deletiert und/oder ersetzt und/oder insertiert und/oder eine

oder mehrere Aminosäureteilsequenz(en) invertiert ist/sind und welche isofunktionell ist,

(d) einer Aminosäuresequenz, an deren C-Terminus und/oder N-Terminus eine Aminosäuresequenz fusioniert ist, wobei das
5 sich ergebende Fusionsprotein isofunktionell ist und/oder die zusätzlichen C-terminalen oder N-terminalen Aminosäuresequenzen leicht abgespalten werden können.

10 Ferner umfaßt die Erfindung polyklonale oder monoklonale Antikörper gegen die obigen Aminosäuresequenzen sowie die Verwendung der obigen DNA- und/oder Aminosäuresequenzen und/oder
der obigen Antikörper in einem Assay zur humangenetischen Diagnostik, insbesondere zur Bestimmung von Trisomie 13, 18, 21
15 oder 22, sowie die Verwendung der obigen DNA- und/oder Aminosäuresequenzen zum Auffinden von Antagonisten gegen PAPP-E.

Weitere vorteilhafte und/oder bevorzugte Ausführungsformen
20 der Erfindung sind Gegenstand der Unteransprüche.

Im folgenden wird die Erfindung ohne Beschränkung anhand von Ausführungsbeispielen und unter Bezugnahme auf die Abbildungen detaillierter beschrieben.

25

Durch Genbankrecherche mit den BLAST-Programmen am NCBI [Altschul, 1997] wurde nach neuen cDNAs für Proteine mit Zinkbindungsmotiv gesucht. Dabei wurde ein zirka 300 bp großes *Expressed Sequence Tag* (EST) gefunden (gi 2020543).
30 Dieses kodiert ein Proteinfragment mit dem vollständig konservierten Zinkbindungsmotiv der Metzinkine [Bode 1996] und

besitzt hohe Homologie zu dem *Pregnancy-associated Plasma Protein-A* (PAPP-A).

Die Klonierung dieses cDNA Fragmentes erfolgte durch RT-PCR
5 [Sambrook, 1989]. Hierzu wurde RNA aus Plazentagewebe isoliert (RNeasy Total RNA System, Qiagen), revers transkribiert (Superscript II RNase H⁻ Reverse Transcriptase, Life Technologies), mit den Primern

5'-tgaaggagctgaaggaggccctgc-3' und

10 5'-cgggtgtcggcacagaggtctcccg-3'

amplifiziert (Taq DNA Polymerase, Roche) und mittels TA-Cloning kloniert (TOPO TA Cloning Kit, Invitrogen). Anschließend 5'- und 3'-RACE-Experimente mit diesen genspezifischen Primern, Marathon-Ready-Placenta-cDNA (Clontech), dem
15 Advantage-2-Polymerase-Mix (Clontech) und dem TOPO-XL-PCR Cloning-Kit (Invitrogen) führte zur Klonierung der vollständigen cDNA einschließlich flankierendem 5'- und 3'-Bereich [Abb. 1]. Die abgeleitete, 1542 Aminosäuren umfassende Sequenz des reifen Proteins wurde "PAPP-E" genannt, da
20 sie im Vergleich zu PAPP-A eine 62 prozentige Homologie mit 44 Prozent identischen Aminosäuren, eine konservierte Anordnung der rund 80 Cysteinreste und eine konservierte Domänenstruktur besitzt [Abb. 2, Abb. 3]. Ferner wurde das PAPP-E-Gen durch Radiation-Hybrid-Mapping [Cox 1990] mit dem Gene-
25 Bridge4-Panel (Research Genetics) und den Primern

5'-agcccagcatattatgggatgcctggcc-3' und

5'-ggtgtcggcacagaggtctcccgtttcc-3'

auf Chromosom 1 im Bereich der Bande q23-25 lokalisiert [Abb. 5].

Durch RNA-Array-Hybridisierung konnte gezeigt werden, daß PAPP-E sehr spezifisch in plazentalem Gewebe exprimiert wird

[Abb. 4]. Dieser Nachweis erfolgte durch Biotinylierung des klonierten PAPP-E-cDNA-Fragmentes (North2South Biotin Random Prime Kit, Pierce), Hybridisierung des MTE-Array-2 (Pierce) und Detektion mit dem North2South-Chemiluminescent-Hybridization-and-Detection-Kit (Pierce), CL-XPosure-X-ray Film (Pierce) und Eukobrom-Entwickler und Superfix-Fixierlösung (Tetena).

Zusammengefaßt offenbart bzw. umfaßt die Erfindung somit das humane Pregnancy-associated Plasma-Protein-E (PAPP-E), die zugehörige cDNA, DNA und RNA, sowie die chromosomale Lokalisierung auf dem Chromosom 1q23-25, die Darstellung des Proteins und abgeleiteter Peptide aus Zellkulturen durch Anwendung von Rekombinationstechniken sowie die Isolierung aus humanen Seren, den Einsatz der DNA und des Proteins sowie jeweiliger Fragmente sowie von Peptid- und Nucleinsäure-Antagonisten zu therapeutischen Zwecken, diagnostische Assays zum Nachweis des Proteins und der DNA, sowie natürlich vorkommende Mutationen.

Literaturverzeichnis:

- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J.,
Zhang, Z., Miller, W., Lipman D. J. (1997). Gapped BLAST
5 and PSI-BLAST: A new generation of protein database search
programs, Nucleic Acids Res. 25, 3389-404.
- Angelloz-Nicoud, P., Harel, L., and Binoux, M. (1996). Recombinant human insulin-like growth factor (IGF) binding protein-3 stimulates prostate carcinoma cell proliferation via
10 an IGF-dependent mechanism. Role of serine proteases.
Growth Regul 6,130-36.
- Bayes-Genis, A., Conover, A., and Schwartz, R. S. (1999). The
insulin-like growth factor axis. Circ Res 86, 125-30.
- Bersinger, N. A., Brizot, M. L., Johnson, A., Snijders, R.
15 J., Abbott, J., Schneider, H., and Nicolaides, K. H.
(1994). First trimester maternal serum pregnancy-associated
plasma protein A and pregnancy-specific beta 1-glycoprotein
in fetal trisomies. Br J Obstet Gynaecol 101, 970-4.
- Biagiotti, R., Brizzi, L., Periti, E., d'Agata, A., Vanzi,
20 E., and Cariatì, E. (1998). First trimester screening for
Down's syndrome using maternal serum PAPP- A and free beta-
hCG in combination with fetal nuchal translucency thickness.
Br J Obstet Gynaecol 105, 917-20.
- Bode, W., Grams, F., Reinemer, P., Gomis-Rüth, F. X., Bau-
25 mann, U., McKay, D. B., and Stöcker, W. (1996). The metzincin-
superfamily of zinc-peptidases. Adv Exp Med Biol 389,
1-11.
- Bohn, H. (1971). Detection and characterization of pregnancy
proteins in the human placenta and their quantitative immunochemical
30 determination in sera from pregnant women. Arch
Gynakol 210, 440-57.

- Bonno, M., Oxvig, C., Kephart, G. M., Wagner, J. M., Kristensen, T., Sottrup-Jensen, L., and Gleich, G. J. (1994). Localization of pregnancy-associated plasma protein-A and co-localization of pregnancy-associated plasma protein-A messenger ribonucleic acid and eosinophil granule major basic protein messenger ribonucleic acid in placenta. *Lab Invest* 71, 560-6.
- Bossi, M., Winterhalter, K. H., and Bersinger, N. A. (1993). Pregnancy-associated plasma protein B (PAPP-B): isolation from human late pregnancy serum and biochemical characterization. *Biochem Mol Biol Int* 29, 93-102.
- Butt, A. J., Firth, S. M., and Baxter, R. C. (1999). The IGF axis and programmed cell death. *Immunol Cell Biol* 77, 256-62.
- 15 Cox, D. R., Burmeister, M., Price, E. R., Kim, S., Myers, R. M. (1990). Radiation hybrid mapping: a somatic cell genetic method for constructing high-resolution maps of mammalian chromosomes. *Science* 250, 245-50.
- Cregg, J. M., Vedvick, T. S., and Raschke, W. C. (1993). Recent advances in the expression of foreign genes in *Pichia* 20 *pastoris*. *Biotechnology (N Y)* 11, 905-10.
- De Graaf, I. M., Pajkrt, E., Bilardo, C. M., Leschot, N. J., Cuckle, H. S., and van Lith, J. M. (1999). Early pregnancy screening for fetal aneuploidy with serum markers and nuchal translucency. *Prenat Diagn* 19, 458-62.
- 25 Folkersen, J., Teisner, B., Grunnet, N., Grudzinskas, J. G., Westergaard, J. G., and Hendersson, P. (1981). Circulating levels of pregnancy zone protein: normal range and the influence of age and gender. *Clin Chim Acta* 110, 139-45.
- 30 Fowlkes, J. L., Enghild, J. J., Suzuki, K., and Nagase, H. (1994). Matrix metalloproteinases degrade insulin-like

growth factor-binding protein-3 in dermal fibroblast cultures. *J Biol Chem* 269, 25742-46.

Fowlkes, J. L., Thrailkill, K. M., George-Nascimento, C., Rosenberg, C. K., and Serra D. M. (1997). Heparin-binding, highly basic regions within the thyroglobulin type-I repeat of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) -3, -5, and -6 inhibit IGFBP degradation. *Endocrinology* 138, 2280-85.

Gall, S. A., and Halbert, S. P. (1972). Antigenic constituents in pregnancy plasma which are undetectable in normal non-pregnant female or male plasma. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 42, 503-15.

Klopper, A., Ahmed, A. G., Bersinger, N., and Urbaniak, S. (1985). Placental proteins in male serum. *Gynecol Obstet Invest* 20, 138-40.

Knight, C. G., Willenbrock, F., and Murphy, G. (1992). A novel coumarin-labelled peptide for sensitive continuous assays of the matrix metalloproteinases. *FEBS Lett* 296, 263-6.

Kristensen, T., D'Eustachio, P., Ogata, R. T., Chung, L. P., Reid, K. B., and Tack, B. F. (1987). The superfamily of C3b/C4b-binding proteins. *Fed Proc* 46, 2463-9.

Kristensen, T., Oxvig, C., Sand, O., Moller, N. P., and Sottrup-Jensen, L. (1994). Amino acid sequence of human pregnancy-associated plasma protein-A derived from cloned cDNA. *Biochemistry* 33, 1592-8.

Lawrence, J. B., Oxvig, C., Overgaard, M. T., Sottrup-Jensen, L., Gleich, G. J., Hays, L. G., Yates, J. R. r., and Conover, C. A. (1999). The insulin-like growth factor (IGF)-dependent IGF binding protein-4 protease secreted by human fibroblasts is pregnancy-associated plasma protein-A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 3149-53.

- Lin, T. M., Galbert, S. P., Kiefer, D., Spellacy, W. N., and Gall, S. (1974). Characterization of four human pregnancy-associated plasma proteins. *Am J Obstet Gynecol* 118, 223-36.
- 5 Oxvig, C., Sand, O., Kristensen, T., Gleich, G. J., and Sottrup-Jensen, L. (1993). Circulating human pregnancy-associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 268, 12243-6.
- 10 Oxvig, C., Sand, O., Kristensen, T., Gleich, G. J., and Sottrup-Jensen, L. (1993). Circulating human pregnancy-associated plasma protein-A is disulfide-bridged to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 268, 12243-6.
- 15 Pandya, P. P., Brizot, M. L., Kuhn, P., Snijders, R. J., and Nicolaides, K. H. (1994). First-trimester fetal nuchal translucency thickness and risk for trisomies. *Obstet Gynecol* 84, 420-3.
- Reid, K. B., and Day, A. J. (1989). Structure-function relationships of the complement components. *Immunol Today* 10, 177-80.
- 20 Reid, K. B., and Day, A. J. (1989). Structure-function relationships of the complement components. *Immunol Today* 10, 177-80.
- Ren, J., Samson, W. K., and Sowers, J. R. (1999). Insulin-like growth factor I as a cardiac hormone: physiological and pathological implications in heart disease. *J Mol Cardiol* 31, 2049-61.
- 25 Ren, J., Samson, W. K., and Sowers, J. R. (1999). Insulin-like growth factor I as a cardiac hormone: physiological and pathological implications in heart disease. *J Mol Cardiol* 31, 2049-61.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F., Maniatis, T. (1989) *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Silahtaroglu, A. N., Tumer, Z., Kristensen, T., Sottrup-Jensen, L., and Tommerup, N. (1993). Assignment of the human gene for pregnancy-associated plasma protein A (PAPPA) to 9q33.1 by fluorescence in situ hybridization to mitotic and meiotic chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 62, 214-6.
- 30 Silahtaroglu, A. N., Tumer, Z., Kristensen, T., Sottrup-Jensen, L., and Tommerup, N. (1993). Assignment of the human gene for pregnancy-associated plasma protein A (PAPPA) to 9q33.1 by fluorescence in situ hybridization to mitotic and meiotic chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 62, 214-6.

- Sinosich, M. J., Porter, R., Sloss, P., Bonifacio, M. D., and Saunders, D. M. (1984). Pregnancy-associated plasma protein A in human ovarian follicular fluid. *J Clin Endocrinol Metab* 58, 500-4.
- 5 Sjöberg, J., Wahlström, T., Seppälä, M., Rutanen, E. M., Koistinen, R., Koskimies, A. I., Tenhunen, A., Sinosich, M. J., and Grudzinskas, J. G. (1984). Hyperstimulated human preovulatory follicular fluid, luteinized cells of unruptured follicles, and corpus luteum contain pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A). *Fertil Steril* 41, 10 551-7.
- Sjöberg, J., Wahlström, T., and Seppälä, M. (1984). Pregnancy-associated plasma protein A in the human endometrium is dependent on the effect of progesterone. *J Clin Endocrinol Metab* 58, 15 359-62.
- Sjöberg, J., Wahlström, T., Grudzinskas, J. G., and Sinosich, M. J. (1986). Demonstration of pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A)-like material in the fallopian tube. *Fertil Steril* 45, 517-21.
- 20 Stöcker, W., and Bode, W. (1995). Structural features of a superfamily of zinc-endopeptidases: the metzincins. *Curr Opin Struct Biol* 5, 383-90.
- Westergaard, J. G., Teisner, B., and Grudzinskas, J. G. (1983). Serum PAPP-A in normal pregnancy: relationship to fetal and maternal characteristics. *Arch Gynecol* 233, 211-25 5.
- Wheeler, D. M., Edirisinghe, W. R., Petchell, F., Yovich, J. L., Murch, A. R., Saunders, D. M., and Sinosich, M. J. (1996). Trophoblast antigen levels in the first trimester of a trisomy 22 pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 30 66, 197-9.

Yu, H., and Berkel, H. (1999). Insulin-like growth factors and cancer. J La State Med Soc 151, 218-23.

Zheng, B., Clarke, J. B., Busby, W. H., Duan, C., and Clemmons, D. R. (1998). Insulin-like growth factor binding protein-5 is cleaved by physiological concentrations of thrombin. Endocrinology 139, 1708-14.

Patentansprüche

1. DNA-Sequenz, die eine DNA-Sequenz umfaßt, welche ausgewählt ist unter

5

(a) der folgenden DNA-Sequenz:

tccgagggcgcccgggcaggtgttctgccaaactctgagctgggctggacacgcaagaaatcc
ttggttgagaggggaacacctgaatcaggtgctgttggaaggagaacgttggtggctgggggc
10 caaggttcgaagacccagagcttctccacagcatcacctctttggagtctaccccagcaggg
ctgggaactacctaaggccctaccccgtgggggagcaagaaatccatcatacaggacgcagc
aaaccagacactgaaggaaatgctgtgagccttggtccccagacctgactgaaaatccagc
aggactgaggggtgcagttgaagagccggctgccccatgggtaggggatagtcctattgggc
aatctgagctgctgggagatgatgacgcttatctcggcaatcaaagatccaaggagtctcta
15 ggtgaggccgggattcagaaaggctcagccatggctgccactactaccaccgccattttcac
aaccctgaacgaacccaaaccagagacccaaaggaggggctgggccaagtccaggcagcgtc
gccaagtgtggaagaggcgggcggaagatgggcagggagactccggtatctcttcacatttc
caaccttgggccaagcattcccttaaacacaggggtcaaaaagagtccaccggaggaaagcaa
ccaaaatgggtggagagggctcctaccgagaagcagagacctttaactcccaagtaggactgc
20 ccatcttatacttctctgggaggcgggagcggctgctgctgcgtccagaagtgctggctgag
attccccgggaggcggttcacagtggaagcctgggttaaaccggaggaggacagaacaacc
agccatcatcgcaggtgtgtttgataactgctcccacactgtcagtgacaaaggctgggccc
tggggatccgctcaggggaaggacaagggaagcgggatgctcgcttcttcttctccctctgc
accgaccgcgtgaagaaagccaccatcttgattagccacagtcgctaccaaccaggcacatg
25 gacccatgtggcagccacttacgatggacggcacatggccctgtatgtggatggcactcagg
tggctagcagtctagaccagtctgggtcccctgaacagccccttcatggcatcttgccgctct
ttgctcctggggggagacagctctgaggatgggcactatctccgtggacacctgggcacact
ggttttctgggtcgaccgccctgccacaaagccattttcagcacagttctcagcattcaagtg
aggaggaggaagcgactgacttggtcctgacagcgagctttgagcctgtgaacacagagtgg
30 gttcccttttagagatgagaagtaccacagacttgaggttctccagggctttgagccagagcc
tgagattctgtcgcctttgcagccccactctgtgggcaaacagtctgtgacaatgtggaat
tgatctcccagtaacaatggatactggccccttcggggagagaaaggatgatacgctaccagggtg

gtgaacatctgtgatgatgagggcctaaacccccattgtgagtgaggagcagattcgtctgca
gcacgaggcactgaatgaggccttcagccgctacaacatcagctggcagctgagcgtccacc
aggtccacaattccaccctgcgacaccgggttggtgcttggtgaactgtgagcccagcaagatt
ggcaatgaccattgtgaccccgagtgtgagcaccactcacaggctatgatgggggtgactg
5 cgcctgcagggccgctgctactcctggaaccgcagggatgggctctgtcacgtggagtgt
acaacatgctgaacgactttgacgacggagactgctgcgacccccagggtggctgatgtgcg
aagacctgctttgaccctgactcacccaagaggggcatacatgagtgtgaaggagctgaagga
ggcctgcagctgaacagtactcacttcctcaacatctactttgccagctcagtgcgggaag
accttgacaggtgctgccacctggccttgggacaaggacgctgtcactcacctgggtggcatt
10 gtcctcagcccagcatattatgggatgcctggccacaccgacaccatgatccatgaagtggg
acatgttctgggactctaccatgtctttaaggagtcagtgaagagaatcctgcaatgacc
cctgcaaggagacagtgccatccatggaaacgggagacctctgtgccgacaccgccccact
ccaagagtgagctgtgccgggaaccagagcccactagtacacctgtggcttcactcgctt
cccaggggctccgttcaccaactacatgagctacacggatgataactgcactgacaacttca
15 ctccctaaccaagtggcccgaatgcattgctatttggacctagtctatcagcagtggaactgaa
agcagaaagcccacccccacccccattccacctatgggtcatcggacagaccaacaagtcctt
cactatccactggctgcctcctattagtggagttgtatatgacagggcctcaggcagcttgt
gtggcgcttgactgaagatgggacctttcgtcagtatgtgcacacagcttcctcccggcgg
gtgtgtgactcctcaggttattggaccccagaggaggctgtggggcctcctgatgtggatca
20 gccctgcgagccaagcttacaggcctggagccctgaggtccacctgtaccacatgaacatga
cggtcacctgccccacagaaggctgtagcttggagctgctctccaacacccgggtccaagcc
gacacctcacctgtgggtcacttccttcttcattggagtcctcgcaggtcctctttgacac
agagatcttgctggaaaacaaggagtcagtgcacctgggccccttagacactttctgtgaca
tcccactcacctcaaaactgcacgtggatgggaagggtgtcgggggtgaaagtctacaccttt
25 gatgagaggatagagattgatgcagcactcctgacttctcagccccacagtcctttgtgctc
tggctgcaggcctgtgaggtaccaggttctccgcgatccccattttgccagtggtttgcccg
tggtggtgacacattctcacaggaagttcacggacgtggaggtcacacctggacagatgtat
cagtaccaagttctagctgaagctggaggagaactgggagaagcttcgcctcctctgaacca
cattcatggagctccttattgtggagatgggaagggtgtcagagagactgggagaagagtgtg
30 atgatggagaccttgtgagcggagatggctgctccaagggtgtgtgagctggaggaaggtttc
aactgtgtaggagagccaagcctttgctacatgtatgagggagatggcatatgtgaaccttt
tgagagaaaaaccagcattgtagactgtggcatctacactcccaaaggatacttggatcaat

gggctacccgggcttactcctctcatgaagacaagaagaagtgtcctgtttccttggttaact
ggagaacctcattccctaatttgcacatcataccatccagatttaccacaaccaccgtcccct
aactggctggtttccctgtgttgccagtgaaaatgaaactcaggatgacaggagtgaacagc
cagaaggtagcctgaagaaagaggatgaggtttggctcaaagtgtgtttcaatagaccagga
5 gaggccagagcaatttttatttttttgacaactgatggcctagttcccggagagcatcagca
gccgacagtgactctctacctgaccgatgtccgtggaagcaaccactctcttggaacctatg
gactgtcatgccagcataatccactgattatcaatgtgacccatcaccagaatgtccttttc
caccataccacctcagtgtgtgccgaattttctcatccccacgggtcggcatctcagctgtggc
tctaaggacatcctcccgcatgtgttcttctggctcccagtaactgcatctcagaggacgagg
10 ggcagaatcatcagggaacagagctgtatccatcgccctgtgggaagcaggacagctgtccg
tcattgctgcttgatcatgctgatgtggtgaactgtacctctataggcccagggtctcatgaa
gtgtgctatcacttgtcaaaggggatttggccttcaggccagcagtgggcagtacatcaggc
ccatgcagaaggaaattctgctcacatgttcttctgggcactgggaccagaatgtgagctgc
cttcccgtggactgcggtgttcccgaaccgtctttgggtgaactatgcaaacttctcctgctc
15 agaggggaaccaaatttctgaaacgctgctcaatctcttggtgtcccaccagccaagctgcaag
gactgagcccatggctgacatgtcttgaagatgggtctctgggtctctccctgaagtctactgc
aagttggagtgtgatgctccccctattattctgaatgccaaacttgctcctgcctcactgcct
ccaggacaaccacgacgtgggcaccatctgcaaataatgaatgcaaaccaggggtactatgtgg
cagaaagtgcagaggggtaaagtgcaggaacaagctcctgaagatacaatgcctggaagggtgga
20 atctgggagcaaggcagctgcattcctgtggtgtgtgagccacccccctcctgtgtttgaagg
catgtatgaatgtaccaatggcttcagcctggacagccagtggtgtgctcaactgtaaccagg
aacgtgaaaagcttcccatcctctgcactaaagagggcctgtggaccaggagtttaagttg
tgtgagaatctgcaaggagaatgccaccacccccctcagagctgaattctgtggagtacaa
atgtgaacaaggatatgggattggtgcagtgtgttccccattgtgtgtaatcccccccagtg
25 accccgtgatgctacctgagaatatcactgctgacactctggagcactggatggaacctgtc
aaagtccagagcattgtgtgcactggccggcgtcaatggcaccagacccccgtcttagtcca
ctgcatccagtcattgtgagcccttccaagcaaatggttggtgtgacactatcaacaaccgag
cctactgccactatgacgggggagactgctgctcttccacactctcctccaagaagggtcatt
ccatttgctgctgactgtgacctggatgagtgcacctgccgggaccccaaggcagaagaaaa
30 tcagtaactgtgggaacaagccccctccctccactgcctcagaggcagtaagaaagagaggcc
gaccaggaggaaacaagggtgaatgaagaagaacaatcatgaaatggaagaaggaggaag
agcatgaaggatcttataagaatgcaagaggatattgatagggtgtgaactagttcatcaag

tagcccaagtaggagagaatcataggcaaaagtttcttttaaagtggcagttgattaacatgg
aaggggaaatatgatagatatataaggaccctccacctgcccgggcccgcgctc

oder derem komplementären Strang,

5

(b) DNA-Sequenzen, die unter stringenten Bedingungen an Proteine kodierende Bereiche einer DNA-Sequenz nach (a) oder an Fragmente einer derartigen DNA-Sequenz hybridisieren,

10 (c) DNA-Sequenzen, die aufgrund einer Degeneration des genetischen Codes an DNA-Sequenzen nach (a) oder (b) hybridisieren,

(d) allelen Variationen und Mutationen, die sich durch Substitution, Insertion oder Deletion von einzelnen oder mehreren Nucleotiden oder Inversion von einzelnen oder mehreren Nucleotidteilsequenzen der DNA-Sequenzen nach (a) bis (c) ergeben, wobei die Variationen und Mutanten isofunktionelle Expressionsprodukte kodieren.

20

2. Rekombinierter Expressionsvektor, der eine DNA-Sequenz nach Anspruch 1 enthält.

3. Prokaryotische oder eukaryotische Zelle, die mit einer DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder einem rekombinierten Expressionsvektor nach Anspruch 2 transformiert oder transfiziert ist.

4. Expressions- oder Teilexpressionsprodukt einer DNA-Sequenz nach Anspruch 1 oder eines rekombinierten Expressionsvektors nach Anspruch 2.

30

5. Verfahren zur Herstellung eines Expressions- oder Teilexpressionsproduktes nach Anspruch 4, bei dem eine Zelle nach Anspruch 3 in einem geeigneten Kulturmedium kultiviert und das Expressions- oder Teilexpressionsprodukt aus den Zellen und/oder dem Kulturmedium isoliert wird.

6. Aminosäuresequenz, die eine Aminosäuresequenz umfaßt, welche ausgewählt ist unter

10 (a) der folgenden Aminosäuresequenz:

	-82		MAATTTTAIFTTLNEPKPETQR	-61
	-60		RGWAKSRQRRQVWKRAEDGQGDSGISSHFQWPWKHSLKHRVKKSPPEESNQNGGEGSYR	-1
	1		EAETFNSQVGLPILYFSGRRERLLLRPEVLAEIPREAFTEAWVKPEGGQNNPAIIAGVF	60
15	61		DNCSHTVSDKGWALGIRSGKDKGRDARFFFSLCTDRVKKATILISHSRYQPGTWTHVAA	120
	121		TYDGRHMALYVDGTQVASSLDQSGPLNSPFMASCRLSLLGGDSSDGHYFRGHLGTLVFW	180
	181		STALPQSHFQHSQSSEEEATDLVLTASFEPVNTWVWPFERDEKYPRLEVLOQGEPEPE	240
	241		ILSPLOPPLCGQTVCDNVELISQYNGYWPLRGEKVIRYQVVNICDDEGLNPIVSEEQIRL	300
	301		QHEALNEAFSRYNISWQLSVHQVHNSTLRHRVVLVNCEPSKIGNDHCDPECEHPLTGYDG	360
20	361		GDCRLQGRCYSWNRDGLCHVECNMLNDFDDGDCCDPQVADVRKTCFDPDSPKRAYMSV	420
	421		KELKEALQLNSTHFLNIYFASSVREDLAGAATWPWDKDAVTHLGGIVLSPAYYGMPGHTD	480
	481		TMIHEVGHLGLYHVFKEGVSERESCNDPCKETVPSMETGDLCADTAPTPKSELCREPEPT	540
	541		SDTCGFTRFPGAPFTNYMSYTDNCTDNFTPNQVARMHCYLDLVYQQWTESRKPTPTPIP	600
	601		PMVIGQTNKSLTIHWLPPISGVVYDRASGSLCGACTEDGTFRQYVHTASSRRVCDSSGYW	660
25	661		TPEEAVGPPDQVQCEPSLQAWSPEVHLYHMNMTVPCPTEGCSLELLFQHPVQADTLTLW	720
	721		VTSFFMESSQVLFDEILLENKESVHLGPLDTFCDIPLTIKLVHDGKVSQVGVYTFDERI	780
	781		EIDAALLTSQPHSPLCSGCRPVRYQVLRDPPFASGLPVVVTHSHRKFTDVEVTPGQMYQY	840
	841		QVLAEGGELGEASPPNLNHIHGAPYCGDGKVSERLGEEDDGLVSGDGCSKVCELEEGF	900
	901		NCVGEPSCYMYEGDGICEPFERKTSIVDCGIYTPKGYLDQWATRAYSSHEDKKKCPVSL	960
30	961		VTGEPHSLICTSYHPDLPNHRPLTGWFPCVASENETQDDRSEQPEGSLKKEDEVWLKVCF	1020
	1021		NRPGEARAIFFLTLDGLVPGEHQOPTVTLYLTDVRGSNHS LGTYGLSCQHNPLIINVTH	1080
	1081		HQNVLFHHTTSVLPNFSSPRVGISAVALRTSSRIGLSAPSNCISEDEGQNHQGGQSCIHRP	1140
	1141		CGKQDSCPSLLLDHADVVNCTSIGPGLMKCAITCQRGFALQASSGQYIRPMQKEILLTCS	1200
	1201		SGHWDQNVSCLPVDCGVPDPSLVNYANFSCSEGTKFLKRCSISCVPPAKLQGLSPWLTCL	1260
35	1261		EDGLWSLPEVYCKLECDAPPIILNANLLPHCLQDNHDVGTICKYECKPGYYVAESAEGK	1320
	1321		VRNKLLKIQCLEGGIWEQGSCIPVVCEPPPPVFEGMYECTNGFSLDSQCVLNCNQEREKL	1380
	1381		PILCTKEGLWTQEFKLCENLQGECPPPPSELNSVEYKCEQGYGIGAVCSPLCVIPSPDPV	1440
	1441		MLPENITADTLEHWMPEVKVQSIVCTGRRQWHPDPVLVHCIQSCEPFQANGWCDTINNRA	1500
40	1501		YCHYDGGDCSSSTLSSKKVIPFAADC DLDECTCRDPKAEENQ	

(b) einer Aminosäuresequenz, bei der es sich um eine allele isofunktionelle Variante der in (a) definierten Aminosäuresequenz handelt,

(c) einer Mutante der in (a) oder (b) definierten Aminosäuresequenz, bei der ein oder mehrere Aminosäurerest(e) deletiert und/oder ersetzt und/oder insertiert und/oder eine oder mehrere Aminosäureteilsequenz(en) invertiert ist/sind
5 und welche isofunktionell ist,

(d) einer Aminosäuresequenz, an deren C-Terminus und/oder N-Terminus eine Aminosäuresequenz fusioniert ist, wobei das sich ergebende Fusionsprotein isofunktionell ist und/oder die
10 zusätzlichen C-terminalen oder N-terminalen Aminosäuresequenzen leicht abgespalten werden können.

7. Polyklonaler oder monoklonaler Antikörper, der gegen ein Expressionsprodukt oder eine Aminosäuresequenz nach einem der
15 vorherigen Ansprüche gerichtet ist.

8. Verwendung einer DNA-Sequenz oder eines Expressionsproduktes oder einer Aminosäuresequenz oder eines Antikörpers nach einem der vorherigen Ansprüche in einem Assay zur human-
20 genetischen Diagnostik.

9. Verwendung nach Anspruch 8, wobei der Assay zum Nachweis von Trisomie 13, 18, 21 oder 22 dient.

25 10. Kit zur Verwendung in einem Assay zur humangenetischen Diagnostik, der eine DNA-Sequenz oder ein Expressionsprodukt oder eine Aminosäuresequenz oder einen Antikörper nach einem der vorherigen Ansprüche enthält.

11. Kit nach Anspruch 10, wobei der Assay zum Nachweis von Trisomie 13, 18, 21 oder 22 dient.
- 5 12. Verwendung einer DNA-Sequenz oder eines Expressionsproduktes oder einer Aminosäuresequenz nach einem der vorherigen Ansprüche in einem Assay zum Auffinden von Antagonisten gegen PAPP-E.
-

tcgaggggccccgggaggtgtctctgccaactctgagctgggtctggacacgcaagaaacccctgggtgagaggggaacacctgaatcaggtgctgttggagggagaaaccc - 621
-450 tggctgggtgggggccaaggttcgaagaccagagctctctccacagcatcacctcttggaggtctacccctagcaggggtgggaactacctagggccctacccctgggggagcaagaatcc - 631
-453 catcatacaggagcagcagcaaacagacactgaaggaaatgctgtgagccttgggtccccagacctgactgaaatccagcaggactgaggggtgcagttgaagagcgggtgccccatgg - 641
-456 gtaggggatagctctattgggcaatctgagctgctgggagatgatgacgcttatctcggaatcaaagatccaaggagctctctagggtgagggcgggattccagaaaggctcagccatggcc - 641
-459 gccactaccaccacggccatcttccacaacctgaacgaacccaaaccagagacccaaaggaggggctggggccaagctccaggcagcgtcgccaagtgtggaagggcggggcggagatggg - 641
-462 A T T T T A I F T T L N E P K P E T O R R G W A K S R Q R R Q V W K R R A E D G - 42
-465 cagggagactccgggtatctctccacattctccaaacctggcccaagcattcccttaaacacaggggtcaaaaagagctccaccggaggaaagcaacaaaatgggtggagaggggtctctaccga - 641
-468 Q G D S G I S S H P Q P W P K H S L K H R V K K S P P E E S N O N G G E G S Y R - 42
-471 gaagcagagaccttcaactcccaagtaggactgccccatcttatacttctctggggagggcgggagcgggtgctgctgctgctccagaagtgtggtgagattcccggggggggttcacagt - 641
-474 E A E T F N S Q V G L P I L Y F S G R R E R L L L R P E V L A E I P R E A F T V - 40
-477 gaagcctgggttaaacggggaggagacagaacaacccagccatcatcgaggtgtgtgtgataactgctccacactgtcagtgacaaaggctgggcccctggggatccgctcagggag - 641
-480 E A W V K P E G G Q N N P A I I A G V F D N C S H T V S D K G W A L G I R S G K - 80
-483 gacaagggaagcgggatgctcgtctctctctctctctctctgacccgacccgctgaagaaagccaccatcttgattagccacagtcgctaccacacagggcacatggacccatggtgagcc - 641
-486 D K G K R D A R F F P S L C T D R V K K A T I L I S H S R Y Q P G T W T H V A A - 120
-489 acttacgagtgagcggcacatggccctgtatgtggatggcactcaggtgggttagcagctctagaccagctctggtccctgaacagccctctcatggcatcttgcgctcttctgctctggg - 641
-492 T Y D G R H M A L Y V D G T O V A S S L D O S G P L N S P F M A S C R S L L L G - 160
-495 ggagacagctctgaggtgagggcactattctccgtggacacctggggcacactggtttctggtcgaccgcccctggcacaagccattttcagcacagttctcagcattcaagtggggaggag - 641
-498 G D S S E D G H Y F R G H L G T L V F W S T A L P Q S H F Q H S S Q H S S E E E - 200
-501 gaagcagctgacttgggtccctgacagcagcttttgagcctgtgaacacagagtggttcccttttagagatgagaagtacccacgacttgaggttctccagggtcttgagccagagcctgag - 641
-504 E A T D L V L T A S F E P V N T E W V P F R D E K Y P R L E V L Q G F E P E P E - 240
-507 actctgtgctcttgcagcccccactctgtgggcaaacagctctgtgacaaatgtggaatgatctccagctacaatggatactggcccccctggggagagaaggtgatagcctaccaggtg - 641
-510 I L S P L Q P P L C G Q T V C D N V R L I S Q Y N G Y W P L R G E K V I R Y Q V - 280
-513 gtgaacatctgtgatgatgaggggtcaaacccccattgtgagtgaggagcagattcgtctgcagcagcagggcactgaatgagggccttcagccgctacaacatcagctggcagctgagcgt - 641
-516 V N I C D D E G L N P I V S E E O I R L Q H E A L N E A F S R Y N I S W Q L S V - 320
-519 caccaggtccacaattccaccctgctgacacccgggtgtgcttgtgaaactgtgagcccgcaagattggcaatgaccattgtgaccccgagtgtagcaccacacacagggctatgagggg - 641
-522 H Q V H N S T L R H R V V L V N C E P S K I G N D H C D P E C E H P L T G Y D G - 360
-525 ggtgactgcccctgacgggcccgtgctactctctggaacccgagggatgggtctgtctcagctggagtgtaacaacatgctgaacgactttgacgagcggagactgctgagacccccaggtg - 641
-528 G D C R L Q G R C Y S W N R R D G L C H V E C N N M L N D F D D G D C C D P Q V - 400
-531 gctgatgtgcgaagacctgctttgacccctgactcaccgaaggggcatacatgagtggtgaaggagctgaaggagggccctgacagctgaacagtgactcacttctcaccatctactttg - 641
-534 A D V R K T C F D P D S P K R A Y M S V K E L K E A L Q L N S T H F L N I Y F A - 440
-537 agctcagtgccgggaagaccttgaggtgctgcccactggcccttgggacaaggagcgtgtcactcactcctgggtggcattgtctcagcccgagcatattatgggatgcttggccacaccga - 641
-540 S S V R E D L A G A A T W P W D K D A V T H L C G I V L S P A Y Y G M P G H T D - 480
-543 accatgatccatgaagtgggacatgttctgggactctaccatgtctttaaaggagtcagtgaaagagaatcctgcaatgacccctgcaaggagacagtgccatccatggaaaaggagga - 641
-546 T M I H E V G H V L G L Y H V P K G V S E R E S C N D P C K E T V P S M E T G D - 520
-549 ctctgtgcccagacccgccccactccccagtgagctgtgcccgggaaccagagccccactagtgacacctgtgggtctcactcgttcccgagggtccggttcaccaactacatgagctta - 641
-552 L C A D T A P T P K S E L C R E P E P T S D T C G F T R F P G A P F T N Y M S Y - 560
-555 acggatgataactgcactgacaacttcaactcctaaccaagtggcccggaatgcattgtctatttggacctagtctatcagcagtgagtgaaagcagaagggccacccccaccccccattcca - 641
-558 T D D N C T D N F T P N Q V A R M H C Y L D L V Y Q Q W T E S R K P T P T P I P - 600
-561 cctatgggtcagcggacagaccaaacagtcctcactatccactggctgctcctctattagtgaggttgtatgatgacagggcctcaggcagcttgtgtggcgcttgactgaagatgggacc - 641
-564 P M V I G Q T N K S L T I H W L P P I S G V V Y D R A S G S L C G A C T E D G T - 640
-567 tttcgtcagtatgtgcacacagcttctcccggggggtgtgtgactcctcaggttattggaccccgagggagggctgtggggcctcctgatgtggatcagccctggagggcaagcttatag - 641
-570 F R Q Y V H T A S S R R V C D S S G Y W T P E E A V G P P D V D Q P C E P S L Q - 680
-573 gctggagccctgaggtccacctgtaccacatgaacatgacgggtccctcctccacagaaggctgtagcttggagctgctcttccaaacacccgggtccaaagccgacacccctcaccctgtgg - 641
-576 A W S P E V H L Y H M N M T V P C P T E G C S L E L L F Q H P V Q A D T L T L W - 720
-579 gtcacttctcttctcatggagctctctcgaggtcctcttggacacagagatcttggctggaaaacaaggagtcagtgacactgggcccccttagacacttctgtgacatccctcaccatcc - 641
-582 V T S P F M E S S Q V L F D T E I L L E N K E S V H L G P L D T F C D I P L T - 760
-585 aaactgcacgtggatgggaagggtgcgggggtgaaagtctacaccttggatgagaggatagagattgatgcagcactcctgacttctcagccccacagtccttctgtgctctggtgaggg - 641
-588 K L H V D G K V S G V K V Y T F D E R I E I D A A L L T S Q P H S P L C S G C R - 800
-591 cctgtgaggttaccaggttctccggatccccctatttgcagtggttggccgtgggtgagacacattctcacagggaagttcacggacgtggaggtcacacctggacagatgtatcagta - 641
-594 P V R Y Q V L R D P P F A S G L P V V V T H S H R K F T D V E V T P G Q M Y Q Y - 840
-597 caagtctcagctgaagtggaggagaactgggagaagcttgcctcctctgaaccacattcatggagctccttatttggagatgggaagggtgtcagagagactgggagaagagtggtgag - 641
-600 Q V L A E A G G E L G E A S P P L N H I H G A P Y C G D G K V S E R L G E E C D - 880
-603 gatggagaccttctgagcggagatgggtgctccaaaggtgtgtgagctggagggaagggtttcaactgtgtaggagagccaagccttctacatgtatgagggagatggcacaatgtgaatcc - 641
-606 D G D L V S G D G C S K V C E L E E G F N C V G E P S L C Y M Y E G D G I C E P - 920
-609 tttgagagaaaaaccagcattgtgagctgtggcattctacactcccaaggatatttggatcaatgggtacccgggttactcctctcatgaagacaagaagagtgctcctgttctcttg - 641
-612 F E R K T S I V D C G I Y T P K G Y L D Q W A T R A Y S S H E D K K K C P V S L - 960

2831 gtaactggagaaactcattccctaatttgacatcataccatccagattatcccaaccacggtcccttaactggctgggtttccctgtgttgccagtgaataatgaactcaggatgacagg 3030
961 V T G E P H S L I C T S Y H P D L P N H R P L T G W F P C V A S E N E T Q D D R 1030

3001 agtgaacagccagaaggttagcctgaagaaagaggatgaggcttggctcaaagtgtgtttcaatagaccaggagaggccagagcaatttttatttttttgacaactgatggcctagtctccc 3120
1001 S E Q P E G S L K K E D E V W L K V C F N R P G E A R A I F I F L T T D G L V P 1040

3121 ggagagcatcaggagccgacagtgaactctctacctgaccgatgtccgtgggaagcaaccactctcttggaaacctatggactgtcatgccagcataatccactgattatcaatgtgacccat 3240
1041 G E H Q Q P T V T L Y L T D V R G S N H S L G T Y G L S C Q H N P L I I N V T H 1080

3241 caccagaatgcctttttccaccataccacctcagtgctgcccgaattttctcatcccccagggctgggtatctcagctgtgggtcttaaggacatccctcccgcatgggtctttcggtctccagt 3360
1081 H Q N V L F H H T T S V L P N F S S P R V G I S A V A L R T S S R I G L S A P S 1120

3361 aactgcattctcaggagcggggcagaatcatcaggagcagagctgtatccatcggccctgtgggaagcaggacagctgtccgtcattgtgcttgatcatgctgagtggtgaactgt 3480
1121 N C I S E D E C Q N H Q G Q S C I H R P C G K Q D S C P S L L L D H A D V V N C 1160

3481 atccttatagggtccagggtctcatgaagtgcctcatcacttgcctcaaaggggatttgccttcaggccagcagtgggcagtagcatcaggcccatgcagaaggaaattctgctcacatgttct 3600
1161 T S I G P G L N K C A I T C Q R G F A L Q A S S G Q Y I R P M Q K E I L L T C S 1200

3601 tctgggactcgggaccagaatgtgagctgccttcccggtggactgagggtgttcccgaccggtcttgggtgaactatgcaaaacttctcctgctcagagggaaccaaatttctgaaacgtgtgc 3720
1201 S G H W D Q N V S C L P V D C G V P D P S L V N Y A N F S C S E G T K F L K R C 1240

3721 tcaatctcttgcgtcccccaccagccaagctgcaaggagctgagcccatgggtgacatgtcttgaagatgggtctctcctcctgaagtctactgcaagttggagtgatgctccccc 3840
1241 S I S C V P P A K L Q G L S P N L T C L E D G L W S L P E V Y C K L E C D A P P 1280

3841 attattctgaatgccaaacttgcctcctgcctcactgcctccaggacaaccacgacgtgggcaccatctgcaaatatgaatgcaaacagggtactatgtggcagaaagtgcagagggtaaa 3960
1281 I I L N A N L L L P H C L Q D N H D V G T I C K Y E C K P G Y Y V A E S A E G K 1320

3961 gtcaggaacaagtctctgaagatacaatgcctggaaggtggaatctgggagcaaggcagctgcattcctgtggtgtgtgagccacccccctcctgtgtttgaaggcatgtatgaatgtacc 4080
1321 V R N K L L K I Q C L E G G I W E Q G S C I P V V C E P P P P V F E G M Y E C T 1360

4081 aatggcttcagcttgacagccagtgtgtgctcaactgttaaccagggaacgtgaaagcttcccatcctctgcactaaagagggcctgtggacccagagctttaagtgtgtgagaatctg 4200
1361 N G F S L D S Q C V L N C N Q E R E K L P I L C T K E G L W T Q E F K L C E N L 1400

4201 caaggagaatgccccaccacccccctcagagctgaattctgtggagtacaatgtgaacaggatattgggtatgggtgcagtgtgttccccattgtgtgttaatccccccagtgaccccggtg 4320
1401 Q G E C P P P P S E L N S V E Y K C E Q G Y G I G A V C S P L C V I P P S D P V 1440

4321 atgctacctgagaatatactgtgacactctggagcactggatggaacctgtcaaagtcagagcattgtgtgcactggccggcggtcaatggcaccagaccccgctcttagtccactgc 4440
1441 M L P E N I T A D T L E H W M E P V K V Q S I V C T G R R Q W H P D P V L V H C 1480

4441 atccagtcagtgtgagccctcccaagcaaatggttgggtgtgacactatcaacaaccgagcctactgcccactatgacgggggagactgtgtcttctccacactctcctccaagaagggtcatt 4560
1481 I Q S C E P F Q A N G W C D T I N N R A Y C H Y D G G D C C S S T L S S K K V I 1520

4561 ccatttgctgctgactgtgacctggatgagtgacactgcccgggaccccaaggcagaagaaatcagtaactgtgggaacaagccccctccctccactgcctcagaggcagtaagaagaga 4680
1521 P F A A D C D L D E C T C R D P K A E E N Q Stop

4681 ggcggacccaggaggaadcaaggggtgaatgaagaagaacaatcatgaatggaagaaggaggaagagcatgaaggatcttataagaatgcaagaggatattgataggtgtgaactagt 4800

4801 tcatcaagttagcccaagtaggagagaatcataggcacaaggttctcttaagtgccagttgattaacatggaaggggaaatatgatagatatataaggacccctccacctgccccgggsgcc 4920

4921 gctc

Abb. 1: cDNA und abgeleitete Proteinsequenz des humanen PAPP-E.
Das potentielle Präpropeptid ist kursiv, Start- und Stoppcodon sind fett gedruckt.

E: 1	EAETFSQVGLP--LYFSGRERLLRPEVLAEIPREAFTEAVKPEGGONPAIAGVFDNCSHTVSDKGNALGIRSGKDKRDRARFFSLCTDRVKXATILISHSRYCPOTWTHV EA P LYFSGR E-L L E-PR-AFT--W--EGGQ-PA-I G--D CS+ D-GW +GI + D+ +D R-FFSL TOR --T + +H Y PG W...
A: 1	EARGATEEPSPPSPALYFSGRGEQLRVLRADL-ELPRDAFTLQVWLRAGGQSSPAVITGLYDKCSYISDRGHTVVGINTISDQCNKDPAYFFSLKTDARQVTTINAHASYLPOTWTHV
E: 119	AATYDGRHMAVYDGTQVASSLDOSGFLNSPFMASCRSLLLGGDSSEGGHYFRCHLGLTVFWSTALPQSHFQHSQSSSEEEATDLVLTAS7EPVNTW7PFRDEKYPAL7--L7G7E AATYDG+ M LYV-J QVA-S +Q G + SP C+ L+LGG + H +RG++ W A O L+L +++ V W P -D P--2 GF
A: 120	AATYDQGFMLYVNGAQTATSGEQVGGIFSPLTQCKVLMGGCSALN--HNYRGYIEH7SLWKVARTQREILSMETHGAHTALPQLLLQETWDT/KHAWSPXKOGSSPKVEFSNAHGF
E: 227	PEPEILSPLOPPLCJDTVCNVELISQYNOYWPLAGEKVIRYQVWNICDEGLNP7IVSEEQIRLQHEALNEAFSRYN7SWQLSVHGVHNS7LHHRV7LV7ICEPSK7IGND7HCDPECEH7P7 + + L-PPL7JDT-CDN E-I+ YN R KV-RY-VVN+ +D+ NP V- EQ+ QH L EAF +YNISW-L V +V NS+LR R++L NC+ SKIG+++CDPEC H LT
A: 228	LD----TSLEPPLCJDTVCNTEV7ASYNQLSSFRQPKVRYR7V7NLYEDCHK7P7TV7REQVDFQHHQLAEAFKQYN7ISWELDVLEVSNSSLRRL7LILAN7DISKIGDENC7DECH7P7
E: 357	GNDGGDCR-LQGRCYSWNRPDGLCHVECHM7LND7FDDGDCDQVADVRKTCFDPDSPKAYMSVKELKEALQ7LNS7H7LNI7YFASSVREDLAGAATWPN7KDAV7H7LGG7V7LSPAY7DM G+DGGDCR L+ + +G+C++CN +FD G+CCDP++ +V +TCFDPDSP RAY+ V ELK L-L+ + LNI+FA S E-LAG ATWPN7K-A+ H7LGG7V7L-P+YDM
A: 358	GNDGGDCRHLR7P7V7K7H7NGV7CD7CN7YER7F7DGG7ECC7DPEIT7N7V7T7C7F7D7P7D7S7P7H7AY7LDV7ELK7NI7LK7L7D7G7S7H7LNI7FAK7S7SEEL7AG7V7ATW7PN7K7EAL7M7H7LGG7V7LNP7S7Y7DM
E: 476	PGHTDTNIHEVGRV7L7GLY7H7V7K7GV7SER7ESCND7PCKETV7SMETGDLCA7DTAPT7PKSEL7CRE7EPTSD7TCG7F7R7P7G7A7F7T7N7Y7M7SY7TD7D7N7C7T7D7P7K7Q7V7A7R7M7CY7LD7LV7Y7Q7W7T7E7R7K7P7 PGHT TNIH7+GH LGLY7H7V7-G-SE +SC-DPC ET PS ETGDL7C DT P PK + C +P P +DTCG7 F P+ N+MSY DD-CTD-FT7P7H7Q7V7A7R7M7CY7LD7LV7Y7Q7W7T7E7R7K7P7
A: 474	PGHTDTNIHEVGRV7L7GLY7H7V7K7GV7SER7ESCND7PCKETV7SMETGDLCA7DTAPT7PKSEL7CRE7EPTSD7TCG7F7R7P7G7A7F7T7N7Y7M7SY7TD7D7N7C7T7D7P7K7Q7V7A7R7M7CY7LD7LV7Y7Q7W7T7E7R7K7P7
E: 596	PTPIPPNVICQTNKSLTIH7W7L7P7F7ISGV7V7Y7D7R7AS7G7S7L7C7G7A7C7T7D7G7T7F7R7Q7V7H7T7A7S7R7R7V7D7S7S7G7Y7W7T7P7E7A7V7G7P7D7V7D7Q7P7C7E7P7S7L7Q7A7W7S7P7E7V7H7Y7M7N7T7V7P7C7P7-TEG7C7S7L7L7F7C7H7P7D7A P + P V+G T S-T+ W PPI G ++R GS C C E QY ASS C SG-W+P EA G PDV+QPC+ S++ WSP + + CP +GC LEL F -P-
A: 594	PVALAPQVLGHTT7D7S7V7L7E7W7P7P7ID7GH7P7ER7E7L7O7S7A7C7H7L7C7E7G7R7I7L7V7Q7Y7A7S7N7A7S7S7P7M7P7C7S7F7S7G7H7S7P7R7E7A7G7H7P7D7E7Q7P7C7K7S7S7V7R7T7W7S7P7H7S7A7V7N7P7H7T7V7P7P7A7C7P7E7P7Q7C7Y7L7E7F7L7Y7P7L7Y7
E: 715	D7L7T7L7W7T7--S7F7M7E7S7S7Q7V7L7F7D7T7S7I7L7L7E7N7K7E7S7V7H7L7G7P7L7D7T7F7C7D7I7P7L7T7I7K7L7-H7V7D7G7K7V7S7G7V7K7Y7T7F7D7E7R7I7E7I7D7A7L7L7T7S7O7P7H7S7P7L7C7S7G7C7R7P7V7Y7Q7V7L7R7D7P7F7A7S7G7L7P7V7V7T7H7S7H7K7F7T7O7E ++LT+WVT S -SS + D ++L + ++ LGP + FCD+PLTI+L V +V G+++YT DE +EIDAA-LTS +PLC C+P+Y-V-RDPP + ++ H +REF C--
A: 714	ESLTINVT7F7V7S7T7D7K7D7S7S7G7A7V7N7D7I7K7L7A7V7S7G7K7N7I7S7L7G7P7Q7N7V7F7C7D7V7L7T7I7R7L7W7D7V7G7E7V7G7I7Q7I7Y7T7L7D7E7H7L7E7I7D7A7M7L7T7S7T7A7D7T7P7L7C7L7Q7C7K7P7L7Y7K7V7R7D7P7L7C7M7D7V7A7S7I7L7-H7L7N7R7E7V7O7M7
E: 832	V7P7G7Q7M7Y7Q7V7L7A7E7A7G7E7L7G7E7A7S7P7P7L7N7H7I7G7A7P7Y7C7G7D7K7V7S7E7R7L7G7E7C7D7C7D7L7V7S7G7D7G7S7K7V7C7E7L7E7E7G7F7N7C7V7G7E7P7S7L7C7Y7M7Y7E7D7G7I7C7E7P7F7E7R7K7T7S7I7V7D7C7G7I7Y7T7P7K7G7Y7L7D7W7A7T7R7A7Y7E7S7H7E + G +YQY V+ -G E E SP + +IHG YCGDG + + GE+CDD + ++GDGCS C E FNC+ EPS CY ++GDG+CE FE+KTSI DCG+YTP+G+LDQWA- A SH-
A: 833	L7N7L7G7S7V7Y7Q7V7W7I7T7S7G7T7E7S7E7P7S7P7A7V7T7Y7I7N7G7R7G7Y7C7G7D7G7I7Q7K7D7Q7E7Q7C7D7M7X7I7N7G7D7G7C7S7L7F7C7R7Q7E7V7S7F7N7C7I7D7E7P7S7R7C7Y7F7H7D7G7D7V7C7E7E7F7E7Q7T7S7I7K7D7C7G7Y7T7P7Q7G7F7L7D7Q7W7A7S7A7S7V7E7H7Q7
E: 952	D7K7K7C7P7V7S7L7V7T7G7E7P7-H7S7L7I7C7T7S7Y7H7P7D7L7P7N7R7P7L7T7G7W7F7P7C7V7A7S7E7N7E7T7Q7D7D7R7S7E7Q7P7E7G7S7L7K7K7E7D7E7V7L7K7V7C7P7N7R7P7G7E7A7R7A7I7F7I7L7T7D7G7L7V7P7G7E7H7Q7Q7P7T7V7L7Y7L7D7V7R7G7S7N7H7S7L7G7T7Y7L7S7C7Q7 D ++CP ++ G-P S +C + DL W-PC S +Q +. WL+ F++P A A+ + L TDG G- +Q T++ L D + -H LG - LST-
A: 953	D-QQC7P7G7W7V7I7Q7P7A7S7Q7V7C7R7I7K7V7I7D7L7S7E7G7I7S7Q7H7A7W7P7C7T7I7S7Y7P7S7Q7-----LAQ7T7F7W7L7R7A7Y7S7Q7P7M7A7A7V7I7V7H7L7V7D7G7T7Y7Y7G7E7Q7K7O7T7I7S7V7Q7L7D7T7K7D7Q7S7H7D7L7G7L7V7L7S7R7
E: 1071	H7N7P7L7I7I7N7V7T7H7Q7N7V7L7P7H7T7T7S7V7L7P7N7F7S7P7R7V7G7I7S7A7V7A7L7T7S7S7R7I7G7L7S7A7P7S7N7C7I7S7E7D7E7G7Q7N7H7Q7Q7S7C7I7H7R7P7C7G7K7Q7D7S7C7P7S7L7L7D7H7A7D7V7V7N7C7T7S7I7G7P7-G7L7N7K7C7A7I7T7C7Q7R7G7F7A7L7Q7A7S7S7G7Y7I7R7 -N7P7L7I7I7V7H7 + F-H- -V +FSSP V IS VALR+ S+C E + OSC+H C K D CP L +++A +NC+S +C ++C+ G+ LQ +
A: 1061	N7N7P7L7I7I7P7V7V7H7D7L7S7Q7P7F7Y7H7S7Q7A7V7R7V7S7F7S7S7P7L7V7A7I7S7G7V7A7L7R7S7F7D7N7F7D7P7V7L7S7S7C7-Q7R7G7E7T7Y7S7P7A7E7Q7S7C7V7H7F7A7C7E7K7D7-C7P7E7L7A7V7E7N7A7S7-L7N7C7S7S7S7D7R7Y7E7G7A7C7T7V7S7C7R7T7G7Y7V7L7Q7-R7A7D7D7E7L7I7
E: 1190	P7M7Q7--K7E7I7L7T7C7S7S7G7H7D7Q7N7V7S7C7L7P7V7D7C7G7V7P7D7P7S7L7V7N7Y7A7N7F7S7C7S7E7G7T7K7P7L7K7R7C7S7I7S7C7V7P7P7A7K7L7Q7L7S7P7W7L7T7C7L7E7D7G7L7W7S7L7P7E7V7Y7C7K7L7E7C7D7A7P7P7I7L7N7A7N7L7L7P7H7C7L7Q7D7N7H7D7V7T7I7C7H7E7C Q + +TC+ G W+ + V+C PVDC +PD V A-FSC EGT F +CS C PA+L+G + LTC+EDGLWS PE C+L C APP + NA+L C ++ H VG- CXY-C
A: 1178	K7S7O7T7G7P7S7V7I7V7T7C7T7E7G7K7W7K7O7V7A7C7E7P7V7D7C7S7I7P7D7H7H7O7V7Y7A7A7S7F7S7C7P7E7G7T7T7E7G7S7O7C7S7P7Q7R7H7P7A7Q7L7K7G7N7S7L7L7C7M7E7D7G7L7W7S7F7P7E7A7L7C7E7L7M7C7L7A7P7P7V7P7N7A7D7I7Q7T7A7R7C7R7E7N7K7H7K7Y7S7S7F7C7K7Y7C7
E: 1208	K7P7Q7Y7Y7A7E7S7A7E7G7K7V7N7K7L7K7I7Q7C7L7E7G7G7I7W7E7Q7G7S7C7I7P7V7V7C7E7P7P7P7V7F7E7G7M7Y7E7C7T7N7G7F7S7L7D7S7Q7V7L7N7C7----N7Q7E7R7E7K7L7P7I7L7C7T7R7E7G7L7W7T7Q7E7P7K7L7C7E7N7L7Q7E7C7P7P7P7S7E7L7N7S7-V7E7Y7H7E7E7G7 K7P7Q7Y7V S+ K + + K QC + G W++G+C+PV C+P7P7P7 F G+Y+CTNGF +S+C + C +Q I C K+G W F +C+ +Q7C-C P+ELNS -- +C G
A: 1298	K7P7Q7Y7V7P7G7S7R7-K7S7K7R7A7F7K7T7O7C7T7O7D7G7S7W7O7E7G7A7C7V7P7V7T7C7D7P7P7P7K7F7H7G7L7Y7O7C7T7N7G7F7O7F7N7E7C7R7I7K7C7E7D7S7E7A7S7O7G7L7G7S7N7Y7I7N7C7R7K7D7G7T7W7N7G7S7H7V7C7Q7E7M7Q7Q7C7-S7V7P7N7E7L7N7S7L7K7C7Q7E7G7
E: 1422	Y7G7I7G7A7V7C7S7P7L7C7V7I7P7S7D7P7V7L7P7E7N7I7A7D7T7L7E7H7W7E7P7V7K7V7Q7S7I7V7C7T7G7R7R7Q7N7K7P7D7P7V7L7V7H7C7I7Q7S7C7E7P7Q7A7N7G7H7C7D7T7I7N7R7A7Y7C7H7Y7D7G7D7C7C7S7T7L7S7K7V7I7P7F7A7D7C7D7L7-E7C7T7E7R7I7P7A7E7E Y I9+ C+ C+ S+ ++LP N+T + HW+ P +V+ +VCT +W+P P L+H7++ CEPF + +CD INNRA+C+YDGGDCC+ST- +KV PF CCL +C CRP+A-E
A: 1416	Y7A7I7G7S7E7A7T7S7C7L7D7R7I7S7E7S7I7L7P7W7Y7V7T7V7E7D7I7P7H7L7N7P7T7R7V7E7R7V7V7C7T7A7G7L7K7Y7E7H7P7A7L7I7H7C7V7K7C7E7P7N7G7D7H7Y7C7A7I7N7N7A7F7C7N7Y7D7G7D7C7C7T7S7T7K7T7K7V7T7P7F7M7S7C7D7L7Q7E7C7A7C7R7D7P7A7E7
PAPP-E:	1541 N
PAPP-A:	1536 H

Abb. 2: Vergleich der PAPP-E und PAPP-A Sequenzen und Motive.

LNR: Lin-notch repeat; SCR: short consensus repeat; Zn²⁺: Zink-Bindungsstelle; □: N-Glykosylierungsstelle; ◇: Anknüpfungsstelle für Glykosaminoglykane.

Short consensus repeats (SCRs):

```

SCR-1 (PAPP-A) C--PELAVENAS-LN-CSSSDRYHGAQCTVSCRTGYVLQIRRDDELIKSQTGPSVTVT-----CT-EGK-WNKQVA---C
SCR-1 (PAPP-E) C--PSLLLDHADVVN-CTSIGP-GLMKCAITCQRGFALQASSGQYIRPMQ--KEILLT-----CSS-GH-WDQNVS---C
SCR-2 (PAPP-A) CSIPDHQVYAASFS-CPEGTT-FGSQCSFOCRHPAQLKGNSLLT-----CMEDGL-WSFPEAL---C
SCR-2 (PAPP-E) CGVPDPSLVNYANFS-CSEGTK-FLKRCISICV7PAKLQGLSPWLT-----CLEDGL-WSLPEVY---C
SCR-3 (PAPP-A) CLAPPPVPNADLQTARCENKHKVGSFCKYKCYPGYHVPSSR-KSKKRAFKTQ-----CTQDGS-W-OEGA---C
SCR-3 (PAPP-E) CDAPPIILNANLLLPHCLQDNHVDGTICKYECY2GYVVAESAEGKVRNKLKIQ-----CLEGGI-WEQGS---C
SCR-4 (PAPP-A) CDPPPPKPHG-LYQ--CTNGFQFN-SECRIKCEDSDASOGLGSNVH-----CRKDG- WNGSFHV---C
SCR-4 (PAPP-E) CEPPPPVFEG-MYE--CTNGFSLD-SQCVLNC-----NQEREKLPIL-----CTKEGL-WTQEFKL---C
SCR-5 (PAPP-A) CSVP-NELNSNLKLO-CPDGYAI-GSECATSCLDHNSSEIILPMNVTVRDIPHWLNPTRVVVCTA-GLKWYPHPALIHG
SCR-5 (PAPP-E) CPPPPSELNS-VEYK-CEQGYGI-GAVCSPLCVIPSPDPMLENITADTLEHWMPEVKVQSIVCTGRRQ-WHPDPVLVHC
PAPP-A SCRs  C--P-----C-----GS-C---C-----C--DEG--W---A---C

```

Linker repeats (LNRs):

```

LNR-1 (PAPP-A) CDISKIGDEN-----CDPE-----CNHTLTGHDGGD-
LNR-1 (PAPP-E) CEPSKIGNDH-----CDPE-----CEHPLTGYDGGD-
LNR-2 (PAPP-A) CRHLRHPAFVKQHNQVCDMD-----CNYERFNFDDGGEC
LNR-2 (PAPP-E) CR-LQGRCYSWNRDGLCHVE-----CNNMLNCFDDGGDC
LNR-3 (PAPP-A) CEPFMGDNY-----CDAINNRAFCNY-----DGGDC
LNR-3 (PAPP-E) CEPFQANGW-----CDTINNRAYCHY-----DGGDC
PAPP-A LNRs  C-----CD-----CNHQ-----DGGDEC

```

Zinc-binding motif:

```

PAPP-A  HEIGHSLGLYH
PAPP-E  HEVGHVLGLYH
MMPs    HE-GH--G--H

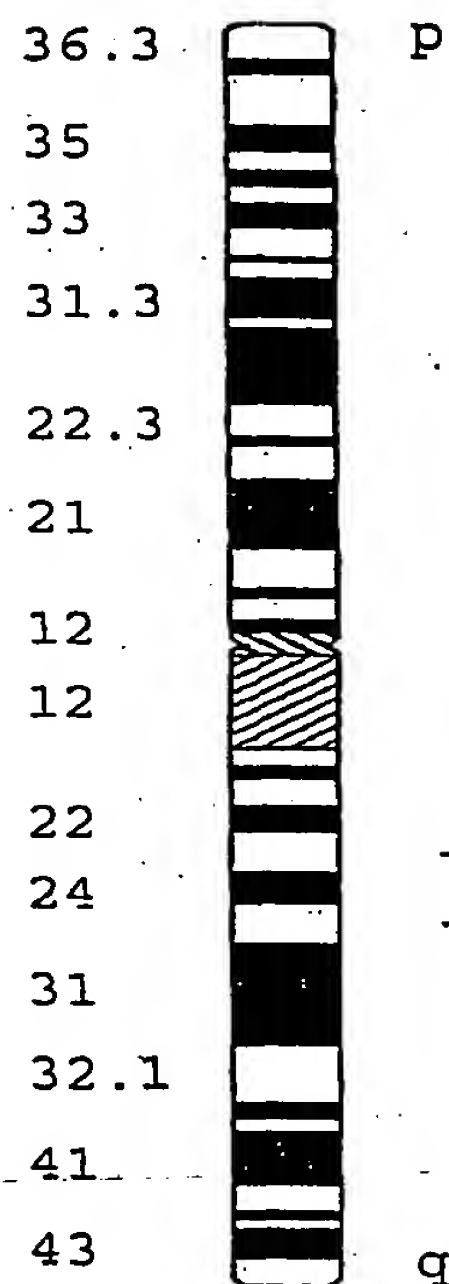
```

Abb. 3: Vergleich der PAPP-A und PAPP-E Konsensussequenzen.
Die PAPP-A Motive entsprechen [Kristensen 1994].

gesamtes Gehirn		Substantia nigra	Herz	Speiseröhre	Kolon, quer	Niere	Lunge	Leber	Leukämie, HL-60	fetales Gehirn	Hefe total RNA
Großhirnrinde	Kleinhirn, rechts	Nukleus accumbens	Aorta	Magen	Kolon, absteigend	Skelettmuskel	Plazenta	Pankreas	HeLa S3	fetales Herz	Hefe tRNA
Stirn-lappen	Balken	Thalamus	Atrium, links	Duodenum	Rektum	Milz	Blase	Nebenniere	Leukämie, K-562	fetale Niere	E. coli tRNA
Scheitel-lappen	Mandelkern	Hypophyse	Atrium, rechts	Jejunum		Thymus	Uterus	Schilddrüse	Leukämie, MOLT-4	fetale Leber	E. coli DNA
Hinterhauptslappen	Schleifenkern	Rückenmark	Ventrikel, links	Ileum		periphere Blutleukozyten	Prostata	Speicheldrüse	Burkitt's Lymphom, Raji	fetale Milz	poly r(A)
Schläfenlappen	Hippokampus		Ventrikel, rechts	Ileozäkum		Lymphknoten	Hoden	Brustdrüse	Burkitt's Lymphom, Daudi	fetaler Thymus	humane C ₁ t-1 RNA
Gyrus parac. der Großhirnrinde	Medulla oblongata		interventrikuläres Septum	Appendix		Knochenmark	Ovar		kolorektales Adenokarzinom, Sw480	fetale Lung	humane DNA 100 ng
Pons	Putamen		Herzspitze	Kolon, aufsteigend		Trachea			Lungenkarzinom, A549		humane DNA 500 ng

Abb. 4: Nachweis der gewebsspezifischen Expression des PAPP-E. Chemilumineszenz-Detektion der Hybridisierung des biotinylierten PAPP-E cDNA-Fragmentes auf dem 75 Tissue Expression Array (Clontech).

Chromosom 1



Daten Vektor:

```

0000000001 1011100010
0000010000 0011000011
0010100000 1000000000
0010010010 0101100000
0100000000 001

```

D1S242 (780.90 cR)

↕ 1.51 cR

PAPP-E

↕ 0.90 cR

AFM210WC11 (783.84 cR)

Abb. 5: Chromosomale Lokalisierung des PAPP-E Gens.

Der Daten Vektor für das Radiation Hybrid Mapping (Genebridge 4 Panel), benachbarte Marker in Zentirad (cR) und die korrespondierende cytogenetische Lokalisierung sind angegeben.